GenoType BC grampositive

VER 3.0



IFU-309-07

06/2010



GenoType **BC grampositive**
Test génétique d'identification des principales bactéries Gram positive cliniquement importantes à partir d'hémoculture.

Principe

Le test **GenoType BC grampositive** est basé sur la technologie **DNA•STRIP** et permet l'identification à partir d'hémoculture positive des bactéries gram positive suivantes : *Streptococcus anginosus/constellatus/intermedius/mutans/sanguis, S. mitis/oralis, S. pyogenes, S. agalactiae, S. dysgalactiae ssp. equisimilis, S. bovis, S. pneumoniae, Staphylococcus aureus, S. haemolyticus, S. epidermidis, S. hominis, S. warneri, S. simulans, Enterococcus faecalis, E. faecium, E. gallinarum* et *E. casseliflavus*.
Simultanément sont également détectés les gènes responsables de la résistance à la vancomycine *vanA, vanB, vanC1*, et *vanC2/C3* ainsi que le gène *mecA* responsable de la résistance à la méthicilline.
La procédure complète comporte trois phases : Extraction de l'ADN à partir d'hémoculture positive (spot de sang séché ; les **GENO•CARDs** nécessaires à la mise en oeuvre du test sont fournies avec le kit), une amplification multiplex à l'aide d'amorces biotinylées (ADN polymérase thermostable non fournie), et hybridation inverse.
Cette dernière phase comporte les étapes suivantes : dénaturation chimique de l'ADN amplifié, hybridation des amplicons simples brins biotinylés aux sondes pré-immobilisées sur la membrane, lavage stringent, et enfin addition d'un conjugué streptavidine/phosphatase alcaline suivie d'une révélation chromogénique. Les signaux obtenus sont facilement et rapidement interprétés à l'aide d'une matrice fournie avec chaque kit.

Conservation et Précautions

Conserver les Mélanges Amorces/Nucléotides (PNM BC grampositive 1 et PNM BC grampositive 2) à 2-8°C à réception, et à l'abri de toute source d'ADN potentiellement contaminante. En cas de conservation supérieure à 4 semaines, conserver à –20°C. Afin d'éviter les congélations-décongélations répétées, aliquoter les PNMs. Conserver tous les autres composants du kit à 2-8°C. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de leur date de péremption.

Les échantillons, prélevés sur patient ou à partir de culture doivent toujours être considérés comme potentiellement infectieux. Les échantillons et les cultures provenant de patients à risque doivent toujours être étiquetés et manipulés dans des conditions de sécurité adaptées. Suivre les recommandations (fédérale, nationale, locale) d'hygiène, de sécurité et d'environnement. Se protéger à l'aide de vêtements adéquats et de gants. Le traitement des échantillons, y compris le dépôt des disques dans les tubes de PCR, doivent être réalisés dans une enceinte confinée de classe II. Observer les précautions usuelles pour la préparation de l'amplification. Il est essentiel que le matériel et les réactifs utilisés pour l'extraction de l'ADN et pour la préparation de l'amplification soient exempts de DNases.
Conserver l'emporte-pièce et la carte protectrice dans un endroit sec à l'abri de la lumière. L'emporte-pièce doit être manié avec précaution en raison des risques de blessures pouvant être occasionnés par son extrémité coupante. Après utilisation, recouvrir à l'aide du bouchon protecteur.
Afin d'éviter les contaminations, les mesures de lavage suivantes doivent être appliquées à intervalles réguliers :
Pour laver l'emporte-pièce, dévisser l'extrémité tranchante et laver la dans une solution d'hypochlorite de sodium à 1,5%, puis dans l'eau déminéralisée. Sécher à l'aide d'air compressé ou par rinçage dans de l'éthanol à 99,8%. Laver la surface externe de l'emporte-pièce avec de l'éthanol à 70%.
Après utilisation, retirer la carte protectrice de la **GENO•CARD**, et rincer la abondamment avec une solution d'hypochlorite de sodium à 1,5%, puis dans l'eau déminéralisée avant séchage à l'air.

Lors de la manipulation du kit, tenir compte des indications de sécurité suivantes :
La **Solution de Dénaturation** (DEN) contient du NaOH (<2%) et est irritante pour la peau et les yeux (R36/38 et S26-37/39-45).
Le **Substrat Concentré** (SUB-C) contient du Dimethyl Sulfoxide et est irritante (R36/37/38, S23-26-36).
Pour des informations supplémentaires, consulter les fiches de sécurité, qui peuvent également être téléchargées à l'adresse suivante :
www.hain-lifescience.com/products/msds.html

Contrôle de Qualité

Afin de contrôler le bon déroulement du test et le bon fonctionnement des réactifs, chaque bandelette comporte 2 zones de contrôle :

- une zone de Contrôle Conjugué pour contrôler la fixation du conjugué sur la bandelette et le bon déroulement de la révélation chromogénique
- une zone de Contrôle Universel qui détecte, au vue des connaissances actuelles, toutes les espèces bactériennes

Prélever de l'ADN et Amplification

Le matériel de départ du test consiste en des échantillons d'hémoculture positive. Le test est validé uniquement lorsqu'il est utilisé en combinaison avec le protocole d'extraction d'ADN suivant. **Le test ne doit pas être utilise pour la détection directe des bactéries dans les échantillons de sang.** Préparer les échantillons dans une pièce dénuée d'ADN amplifié.

Dépôt des échantillons

1. Déposer délicatement approximativement 15 µl ou une goutte d'hémoculture au milieu du champ rond de la **GENO•CARD** et identifier le dépôt dans le champ Texte correspondant.
2. Sécher la **GENO•CARD** ouverte pendant 15 minutes si possible dans une étuve sèche à 37-40°C. Les échantillons ainsi préparés peuvent être conservés à température ambiante dans un endroit sec à l'abri de la lumière pendant au moins 3 mois.

Mix d'amplification

Deux amplifications séparées doivent être réalisées pour chaque échantillon : la première avec le PNM BC grampositive 1 et la seconde avec le PNM BC grampositive 2. Des résultats interprétables sont obtenus uniquement lorsque ces deux réactions de PCR sont effectuées. Préparer les mélanges réactionnels (45 µl respectivement) dans une pièce exempte d'ADN et physiquement séparée de la pièce ayant servi à prélever les échantillons. Il est impératif de ne pas utiliser d'ADN polymérase de type Hot-Start. Réaliser toutes les étapes de pipetage sur de la glace, jusqu'au transfert final dans le thermocycleur.

Préparer le mélange suivant par tube :

- 35 µl de PNM BC grampositive 1 ou PNM BC grampositive 2
- 5 µl de tampon d'incubation de la polymérase 10x – non fourni
- x µl de $MgCl_2$[1)] – non fourni
- 1-2 unité(s) d'ADN polymérase thermostable (se référer au manuel) – non fourni
- y µl d'eau qsp 45 µl (hors volume de l'enzyme) – non fourni

[1)] Selon le système tampon/enzyme utilisé, la concentration optimale de $MgCl_2$ peut varier de 1,5 à 2,5 mM. A noter que certains tampons contiennent déjà le $MgCl_2$.

Pour l'amplification, la Taq DNA Polymerase de Qiagen est recommandée. Lors de l'utilisation de cette enzyme, les volumes/réaction sont les suivants :

- 35 µl de PNM BC grampositive 1 ou PNM BC grampositive 2
- 5 µl de tampon de PCR 10x pour Taq DNA Polymerase (contient 15 mM $MgCl_2$) – non fourni
- 2 µl 25 mM de $MgCl_2$ – non fourni
- 0,2 µl (1 U) Taq DNA Polymerase – non fourni
- 3 µl d'eau (niveau de pureté pour Biologie Moléculaire) – non fourni
- 5 µl de solution d'ADN (ajouté dans une pièce séparée)

La concentration finale du mix réactionnel en $MgCl_2$ est 2,5 mM.

Déterminer le nombre d'échantillons à amplifier (nombre d'échantillons à analyser + contrôles). Un contrôle de contamination contient un disque prélevé à partir du champs ovale de décontamination. Préparer deux master mix contenant tous les réactifs à l'exception des disques, bien homogénéiser (ne pas vortexer) et aliquoter 45 µl des mix dans les tubes de PCR.

Découper un disque

Découper les disques de la **GENO•CARD** dans une pièce dénuée de tout ADN amplifié.

1. Insérer la carte protectrice dans la fente située sur le coté de la **GENO•CARD**. Retirer le bouchon protecteur de l'extrémité de l'emporte-pièce.
2. Positionner l'emporte-pièce (voir chapitre Commandes) à la verticale du dépôt séché de l'échantillon à tester. En imprimant un mouvement de rotation à l'emporte-pièce dans le sens des aiguilles d'une montre, presser fortement jusqu'à découper un disque de papier pour qu'il se retrouve dans l'extrémité de l'emporte-pièce.
3. Presser le bouton poussoir de l'emporte-pièce pour transférer le disque dans un tube de PCR contenant 45 µl de mix d'amplification.
4. Décontaminer l'extrémité de l'emporte-pièce en découpant trois disques dans le champs idoine situé à droite du champs échantillon. Eliminer chaque disque découpé.

Remarque : Observer les procédures de lavage décrites au chapitre Conservation et Précautions. Remplacer la carte protectrice si celle-ci montre des signes clairs d'usure. Veuillez noter que chaque carte possède 4 champs de découpage. En cas d'usure, l'extrémité de l'emporte-pièce peut être commandée à Hain Lifescience (voir chapitre Commandes).

Amplification

Vérifier la présence du disque dans chaque tube PCR. Décoller tout disque de la paroi des tubes en agitant ou en centrifugeant.

Profil d'amplification[2)]:

5 min 95°C	1 cycle
30 sec 95°C 2 min 58°C	10 cycles
25 sec 95°C 40 sec 53°C 40 sec 70°C	20 cycles
8 min 70°C	1 cycle

[2)] S'applique à Taq polymérase recommandée. En cas d'utilisation d'autres Taq polymérases, la durée de la première étape devra peut-être être rallongée en cas d'utilisation d'ADN (se référer au manuel de l'enzyme).

Les produits d'amplification peuvent être conservés entre +8 et –20°C.
La réaction d'amplification peut être contrôlée par électrophorèse en gel en déposant directement 5 µl de chaque échantillon (sans aucun tampon additionnel). Les amplicons générés avec le PNM BC grampositive 1 présentent une taille de 250 pb *(Staphylococcus sp., Streptococcus sp., et Enterococcus sp.),* 132 pb et 80 pb *(Staphylococcus sp., les deux).* Les amplicons générés avec le PNM BC grampositive 2 présentent des tailles de 65 pb (Contrôle Universel), 141 pb (pneumolysine), 71 pb *(mecA)*, 110 pb *(vanA)*, 51 pb *(vanB, vanC2/C3)* et 222 pb *(vanC1)*.

Hybridation

Préparation

Préchauffer le bain-marie agitateur/**TwinCubator** à **45°C** (dérivation maximum : +/–1°C). Préchauffer les solutions HYB et STR à 37-45°C avant utilisation. Les réactifs ne doivent présenter aucun précipité (à noter cependant que la solution CON-D est opaque). Si besoin, agiter. Equilibrer les autres réactifs (à l'exception des solutions CON-C et SUB-C) à température ambiante. Dans un tube approprié, diluer le Conjugué Concentré (CON-C, orange) et le Substrat Concentré (SUB-C, jaune) au 1:100 dans un volume adéquat du tampon correspondant **(CON-C avec CON-D, SUB-C avec SUB-D)**. Bien homogénéiser et équilibrer à température ambiante. Pour chaque échantillon testé, ajouter 10 µl de concentré à 1 ml de tampon. Diluer CON-C avant chaque utilisation. Une fois dilué, SUB-C reste stable pendant 4 semaines conservé à température ambiante et à l'obscurité.

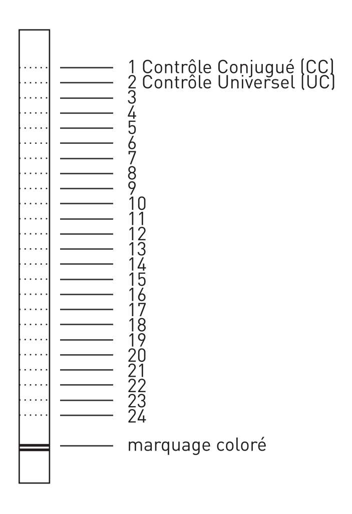
Les deux réactions d'amplification réalisées pour chaque échantillon sont par la suite hybridées avec une seule et même bandelette.

1. **Déposer 40 µl de Solution de Dénaturation (DEN, bleu) à une extrémité de chaque puits utilisé.**
2. **Ajouter 20 µl de chacune des réactions d'amplification, pipeter plusieurs fois afin de bien homogénéiser et incuber à température ambiante pendant 5 minutes. Incuber 5 minutes à température ambiante.**
   Pendant ce temps, à l'aide d'une pince, sortir du tube le nombre approprié de bandelettes (STRIPS), et inscrire au crayon leur numéro d'identification dans l'espace situé sous le marquage coloré. Toujours porter des gants pour manipuler les bandelettes.
3. **Ajouter dans chaque puits 1 ml de Tampon d'Hybridation (HYB, vert) préchauffé et homogénéisé. Doucement agiter le bac jusqu'à ce que le mélange devienne une coloration homogène.**
   Eviter les éclaboussures vers les autres puits.
4. **Déposer une bandelette dans chaque puits utilisé.**
   Les bandelettes doivent être entièrement recouvertes par le liquide, avec la face sensibilisée (identifiable par le marquage coloré) tournée vers le haut. Les bandelettes mal orientées doivent être remises en position à l'aide de pincettes propres. Afin d'éviter toute contamination, bien nettoyer les pincettes après chaque utilisation. Cela vaut aussi pour toutes les étapes suivantes.

5. **Placer le bac dans bain-marie agitateur/TwinCubator et incuber 30 minutes à 45°C.**
   Pour le bain-marie agitateur sélectionner une fréquence d'agitation suffisante pour assurer un bon brassage du tampon. Ajuster le niveau de l'eau dans le bain-marie agitateur au moins à un tiers de la hauteur du bac de façon à assurer un bon transfert de chaleur. Cela vaut aussi pour toutes les étapes suivantes.
6. **Aspirer le Tampon d'Hybridation.**
   Utiliser par exemple une pipette pasteur reliée à une pompe à vide.
7. **Ajouter à chaque puits 1 ml de Solution de Lavage Stringent (STR, rouge) et incuber 15 minutes à 45°C dans le bain-marie agitateur/TwinCubator.**
8. **À partir de cette étape, travailler à température ambiante.**
   Eliminer la Solution de Lavage Stringent.
   Vider la Solution de Lavage Stringent dans un container à déchets. Eliminer tout le liquide résiduel en retournant le bac sur du papier absorbant (effectuer de même pour les autres étapes de lavage).
9. **Laver chaque puits avec 1 ml de Solution de Rinçage (RIN) et incuber pendant 1 minute sous agitation (TwinCubator/plateau agitateur). Vider la Solution de Rinçage.**
10. **Ajouter à chaque puits 1 ml de Conjugué dilué (voir ci-dessus) et incuber 30 minutes sous agitation (TwinCubator/plateau agitateur).**
11. **Vider le contenu des puits et rincer sous agitation 1 minute à l'aide de 1 ml de Solution de Rinçage (RIN). Vider RIN. Répéter ce rinçage une nouvelle fois, puis rincer une fois avec environ 1 ml d'eau distillée à l'aide d'une pissette.**
    Bien éliminer toute trace d'eau dans les puits après cette dernière étape.
12. **Ajouter 1 ml de Substrat dilué (voir ci-dessus) dans chaque puits et incuber sans agitation à l'obscurité.**
    Le temps de révélation peut varier en fonction des conditions de déroulement du test (de 3 à 20 minutes), notamment de la température de la pièce. Des temps de révélation trop longs peuvent entraîner un bruit de fond qui peut gêner l'interprétation des résultats.
13. **Arrêter la réaction en rinçant brièvement deux fois à l'eau distillée.**
14. **À l'aide de pincettes, récupérer les bandelettes et les sécher entre deux couches de papier absorbant.**

Évaluation et Interprétation des Résultats

Classer et ranger les bandelettes à l'abri de la lumière. Une feuille d'évaluation est fournie avec le kit. Utilisation de la feuille d'évaluation : coller les bandelettes dans leur emplacement réservé, en alignant les bandes CC et UC des bandelettes avec les bandes CC et UC de la feuille. Noter les bandes positives dans l'avant-dernière colonne, et déterminer l'espèce correspondante à l'aide du tableau d'interprétation. Noter le résultat dans la dernière colonne. La matrice permet également d'évaluer les résultats en alignant de la même façon les bandes CC et UC des bandelettes et de la matrice. Chaque bandelette comprend 24 zones réactionnelles (voir figure).



Remarque : Cette bandelette n'est pas représentée dans sa taille originale.

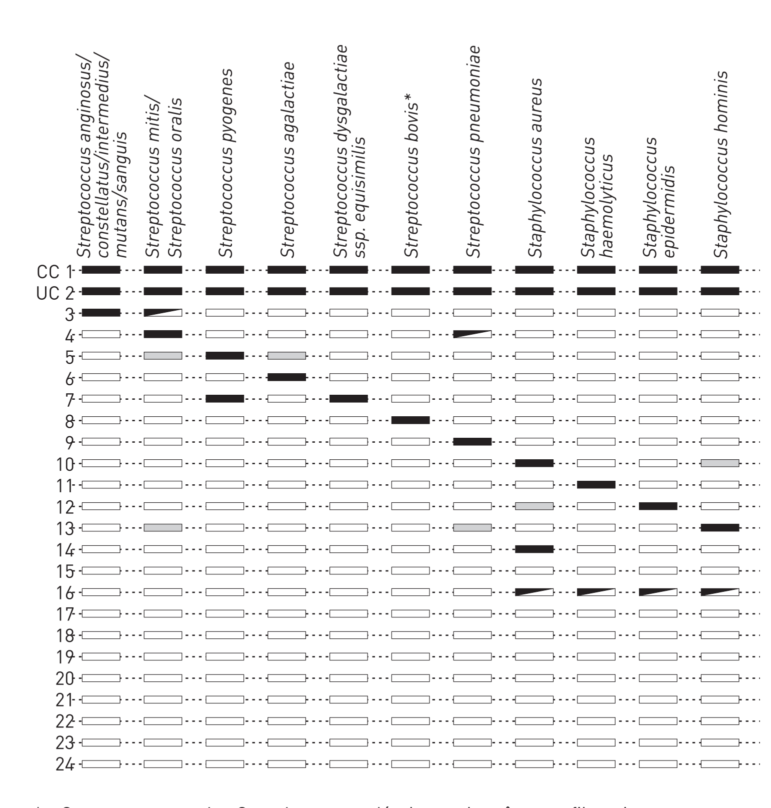
Contrôle Conjugué (CC)
Une ligne colorée doit se développer dans cette zone. Cette ligne témoigne de la bonne fixation du conjugué et du bon déroulement de la révélation.

Contrôle Universel (UC)
Cette zone comprend une sonde s'hybridant au niveau d'une région d'ADN hautement conservée au sein de toutes les espèces bactériennes testées à ce jour. Le développement d'une ligne colorée dans cette zone indique la présence d'ADN bactérien dans l'échantillon testé ainsi qu'une extraction et une amplification de l'ADN correctes. Puisque l'échantillon de départ étant une culture bactérienne, cette zone devrait développer un signal positif. L'amplification du contrôle peut néanmoins être atténuer par l'amplification du (des) séquence(s) spécifique(s). Dans de rares cas, le signal du Contrôle Universel peut apparaître faible bien que le test ait été réalisé correctement et qu'aucune autre bande ne soit détectée.
Veuillez noter que le Contrôle Universel n'est pas un contrôle de PCR. Par exemple, cette zone restera négative avec un contrôle de contamination.

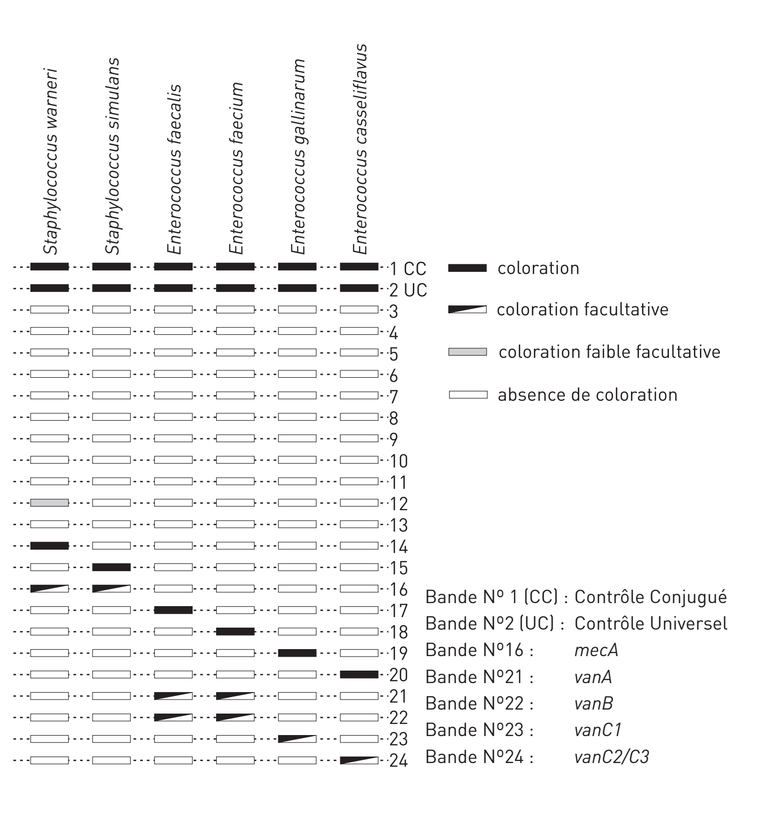
Autres bandes
Sondes spécifiques ; utiliser le tableau d'interprétation pour l'évaluation des résultats. Seules les lignes colorées d'intensité environ égale ou supérieure à celle du Contrôle Universel doivent être prises en compte pour l'interprétation.

Toutes les lignes d'une même bandelette peuvent ne pas présenter la même intensité. Lorsqu'une quantité importante d'amplicons a été utilisée pour l'hybridation, d'autres bandes peuvent occasionnellement apparaître (voir chapitre Causes d'Erreurs).

Tableau d’Interprétation



* *Streptococcus equi* et *S. canis* peuvent développer le même profil, mais avec une bande 8 de faible intensité.


Staphylococcus warneri
Staphylococcus simulans
Enterococcus faecalis
Enterococcus faecium
Enterococcus gallinarum
Enterococcus casseliflavus
1 CC
2 UC
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
coloration
coloration facultative
coloration faible facultative
absence de coloration
Bande Nº 1 (CC) : Contrôle Conjugué
Bande Nº2 (UC) : Contrôle Universel
Bande Nº16 : *mecA*
Bande Nº21 : *vanA*
Bande Nº22 : *vanB*
Bande Nº23 : *vanC1*
Bande Nº24 : *vanC2/C3*

Limitations

Des bandes très faibles ne permettent pas de conclusions définitives.

L'ADN cible doit avoir été amplifié efficacement pendant la réaction d'amplification.

Le test fonctionne dans les limites de la région du génome choisie pour les amorces et les sondes. Un séquençage potentiel doit être réalisé séparément.

La présence de différentes espèces bactériennes dans un même échantillon peut entravée l'interprétation du test.

Comme dans tout système de détection basé sur l'hybridation, il existe la possibilité que des variations situées dans la séquence d'ADN génomique cible à partir de laquelle les amorces et les sondes ont été choisies et pour lesquelles le test n'a pas été conçu, entraînent un résultat erroné. En raison de la grande variabilité des génomes bactériens, il est possible qu'un certain nombre de variants ne puisse pas être détecté. Le test reflète l'état actuel des connaissances de la société Hain Lifescience.

L'utilisation de ce kit est réservée à un personnel qualifié déjà formé et rodé aux techniques de biologie moléculaire.

Les performances du test ont été validées à l'aide du système d'extraction d'ADN **GENO•CARD**. Aucune déclaration sur la compatibilité du test avec d'autres méthodes d'extraction de l'ADN ne peut être affirmée.

L'évaluation des performances du test a été réalisée à l'aide de la Taq DNA Polymerase fournie par la société Eppendorf et de la Taq DNA Polymerase fournie par la société Qiagen. Les échantillons ont été cultivés en système Bactec Hémoculture en utilisant les milieux BACTEC™ Plus Aerobic/F- ou BACTEC™ Plus Anaerobic/F.

Les données sur les performances du test peuvent être téléchargées sur le site internet : www.hain-lifescience.com

Causes d'Erreurs

Résultats faibles ou absence de signal (incluant la zone de Contrôle Conjugué)

- Température ambiante trop basse ou réactifs mal équilibrés.
- CON-C et/ou SUB-C n'a pas été ajouté ou était utilisé trop dilué.

Résultats faibles ou absence de signal, excepté dans la zone de Contrôle Conjugué

- Quantité insuffisante d'ADN sur le disque pour une amplification efficace. Analyser l'ADN amplifié sur un gel. En cas d'amplicons non visibles, répéter l'amplifi-

cation avec 1 à 3 nouveaux disques. Si besoin, utiliser une culture plus dense. Alternativement, utiliser 2-3 disques pour l'amplification.
- L'amplification est inhibée en raison d'une utilisation incorrecte de l'emporte-pièce. Avant de découper un disque, insérer la carte protectrice dans la **GENO•**CARD.
- Aucun disque dans la réaction d'amplification. Vérifier la présence d'un disque dans chaque tube PCR. S'assurer que le disque n'est pas collé contre la paroi du tube au-dessus du niveau du mix d'amplification.
- Température d'incubation trop élevée.

Coloration non homogène
- Les bandelettes n'ont pas été suffisamment immergées lors des différentes incubations.
- Le bac n'a pas été correctement agité.

Bruit de fond important
- CON-C et/ou SUB-C utilisé(s) trop concentré(s).
- Les étapes de lavage n'ont pas été correctement effectuées.
- Les solutions de lavage étaient trop froides lors de leur utilisation.

Résultat inattendu
- Température d'incubation trop basse.
- Solution d'Hybridation et/ou Solution de Lavage Stringent incorrectement équilibrées ou homogénéisées.
- Contamination cause par un mélange de deux hémocultures lors du dépôt sur la **GENO•CARD**. Répéter le dépôt sur un nouveau champ avec un volume d'échantillon réduit.
- Contamination d'un disque par un échantillon précédemment prélevé. Procéder aux mesures de lavage décrites dans le chapitre Conservation et Précautions.
- Contamination des réactifs d'amplification par de l'ADN extrait et/ou amplifié. Dans ce cas, un contrôle de contamination doit entraîner le même profil.
- Contamination des puits voisins par des éclaboussures lors de l'addition de la Solution d'Hybridation.
- Le disque échantillon a été déposé dans une seule des deux réactions d'amplification, ou bien une seule des deux réactions d'amplification a été utilisée pour l'hybridation. Les amplicons spécifiques d'espèces sont générés avec le PNM BC

grampositive 1, alors que sont générés avec le PNM BC grampositive 2 les amplicons du Contrôle Universel et des gènes de résistance.
- Dans certaines conditions du test, une forte concentration d'ADN amplifié peut entraîner une réaction chromogénique très rapide. En pareil cas, afin de prévenir le développement de bandes dues à des réactions d'hybridation croisées, arrêter la réaction chromogénique dès que les premières lignes colorées deviennent visibles.
- La culture de départ n'est pas pure.
- L'espèce bactérienne isolée ne peut pas être identifiée avec ce test.

Matériel Requis mais Non Fourni

- ADN polymérase thermostable avec tampon
  (taux d'extension >1 kb/min, demi-vie : 35 min à 95°C, fidélité 2,5-3,0 x 10^{-5})
- Bain-marie agitateur/**TwinCubator**
- Chronomètre
- Eau (niveau de pureté pour Biologie Moléculaire)
- Embouts de pipettes stériles avec filtre
- Emporte-pièce et carte protectrice (voir chapitre Commandes)
- Eprouvette graduée
- Éthanol p.a. 99,8%
- Etuve sèche
- Gants à usage unique
- Microtubes pour thermocycleur ; exempts de contamination par DNase et RNase
- Milieu de culture des bactéries et équipement correspondant.
- Papier absorbant
- Pincettes
- Pipettes réglables pour 10, 20, 200, et 1000 µl
- Plateau agitateur/**TwinCubator**
- Solution d'hypochlorite de sodium (Eau de Javel ménagère exempte de colorant et sans parfum)
- Thermocycleur (taux de chauffage : 3°C/sec,
  taux de refroidissement : 2°C/sec, précision : +/–0,2°C)
- Thermomètre calibré

Les **GENO•CARDs** nécessaires à la réalisation de ce test sont fournies avec le kit.

Composition du Kit

	12	96
Bandelettes sensibilisées avec des sondes spécifiques	12	96
PNM BC grampositive 1 contient les amorces spécifiques, nucléotides et colorant	0,5 ml	4 ml
PNM BC grampositive 2 contient les amorces spécifiques, nucléotides et colorant	0,5 ml	4 ml
Solution de Dénaturation (DEN) ***prêt à l'emploi*** contient <2% NaOH, colorant	0,6 ml	4,8 ml
Solution d'Hybridation (HYB) ***prêt à l'emploi*** contient 8-10% de détergent anionique, colorant	20 ml	120 ml
Solution de Lavage Stringent (STR) ***prêt à l'emploi*** contient >25% d'un sel d'ammonium quaternaire, <1% détergent anionique, colorant	20 ml	120 ml
Solution de Rinçage (RIN) ***prêt à l'emploi*** contient du tampon, <1% NaCl, <1% de détergent anionique	50 ml	360 ml
Conjugué Concentré (CON-C) ***concentré*** contient de la phosphatase alcaline conjugué à la streptavidine, colorant	0,2 ml	1,2 ml
Tampon Conjugué (CON-D) contient du tampon, 1% agent bloquant, <1% NaCl	20 ml	120 ml
Substrat Concentré (SUB-C) ***concentré*** contient du Dimethyl Sulfoxide, solution substrat	0,2 ml	1,2 ml
Tampon Substrat (SUB-D) contient du tampon, <1% $MgCl_2$, <1% NaCl	20 ml	120 ml
bac, feuille d'évaluation	1 de chaque	4 de chaque
manuel d'utilisation, matrice	1 de chaque	1 de chaque

Commandes

Set de démarrage (emporte-pièce + 5 cartes protectrices)	réf G002
Embout de rechange (embout + 5 cartes protectrices)	réf PR027
GENO•CARD pour 3x 4 échantillons	réf G001
GENO•CARD pour 24x 4 échantillons	réf G00196



309-07-03-00



Hain Lifescience GmbH
Hardwiesenstraße 1, 72147 Nehren, Germany
www.hain-lifescience.de

REF	**309**	**12**	**30996**	**96**